



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“Tessuto adiposo del seno: biomeccanica e possibili
sostituzioni tramite hydrogel”**

Relatore: Prof.ssa Alice Berardo

Laureanda: Francesca Pachin

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea 25/09/2023

INDICE

INDICE.....	1
INTRODUZIONE.....	2
CAPITOLO 1 – ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL SENO.....	3
1.2 – Anatomia del seno.....	3
1.2 – Dalla nascita alla menopausa.....	3
1.3 – La cute.....	4
1.4 – Il tessuto ghiandolare.....	5
1.5 – Il tessuto connettivo.....	6
1.6 – Il tessuto adiposo.....	6
CAPITOLO 2 – MECCANICA DEL TESSUTO ADIPOSO.....	7
2.1 – Influenza delle caratteristiche biologiche.....	7
2.2 – Valutazione del modulo elastico del tessuto adiposo.....	9
2.2.1 – Tecniche in vivo.....	10
2.2.2 – Tecniche ex vivo.....	15
CAPITOLO 3 – HYDROGEL E LE SUE APPLICAZIONI.....	20
3.1 – Hydrogel.....	20
3.1.1 – Proprietà meccaniche.....	20
3.1.2 – Degradazione.....	20
3.2 – Classificazione.....	21
3.2.1 – Hydrogel naturali.....	21
3.2.2 – Hydrogel sintetici.....	23
3.2.3 – Hydrogel biologici.....	25
3.3 – Analisi delle complicazioni durante l’iniezione di PAG.....	27
3.3.1 – I caso clinico in esame.....	28
3.3.2 – II caso clinico in esame.....	29
3.3.3 – III caso clinico in esame.....	29
CONCLUSIONI.....	31
BIBLIOGRAFIA.....	35

INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni, l'interesse per la comprensione e l'applicazione dei biomateriali nel contesto medico è cresciuto in modo significativo. In particolare, il tessuto adiposo mammario rappresenta un elemento chiave nell'estetica e nella salute del seno, influenzando la sua forma, la sua funzionalità e la sua risposta agli stimoli esterni. La valutazione dei comportamenti biomeccanici di questo tessuto riveste un ruolo fondamentale per comprendere le sue proprietà e sviluppare soluzioni innovative per eventuali sostituzioni cliniche. Di questo si occupa l'ingegneria tissutale, la quale sfrutta i biomateriali per creare scaffold tridimensionali che imitano l'architettura e le proprietà del tessuto nativo. Questi scaffold possono essere realizzati con un'ampia varietà di materiali, come polimeri, hydrogel, ceramiche e metalli, e vengono progettati per fornire supporto meccanico, promuovere l'adesione cellulare, indurre la differenziazione e la crescita delle cellule, nonché favorire la neoangiogenesi. L'obiettivo di questa indagine è quella di valutare i comportamenti biomeccanici del tessuto adiposo mammario e quelle che possono essere le sue eventuali sostituzioni in ambito clinico tramite il biomateriale hydrogel. In questo lavoro viene fornita inizialmente una panoramica sull'anatomia del seno e su come questa sia influenzata dalla crescita individuale, approfondendo inoltre gli aspetti anatomici e funzionali dei tessuti epiteliali, connettivi, ghiandolari e adiposi del seno. In seguito, sono stati studiati lavori sperimentali sulla meccanica del tessuto adiposo mammario, concentrandosi in particolare sui valori del modulo elastico valutati in vivo ed ex vivo, per poi proseguire con una classificazione degli hydrogel, approfondendone le caratteristiche biomeccaniche e le proprietà fisiche. In conclusione, sono state esplorate le possibili sostituzioni del tessuto adiposo del seno utilizzando gli hydrogel, analizzando i vantaggi, i difetti e le prospettive future di questa soluzione. Attraverso questa ricerca multidisciplinare, ci si propone di contribuire alla comprensione dei comportamenti biomeccanici del tessuto adiposo mammario e di fornire spunti innovativi per lo sviluppo di soluzioni cliniche avanzate per la mastoplastica post-chirurgica, per le donne che hanno subito interventi a causa di cancro al seno o altre condizioni mediche, e per la mastoplastica a fini estetici, fornendo un'alternativa alle protesi tradizionali o al grasso autologo.

CAPITOLO 1

ANATOMIA E FISIOLOGIA DEL SENO

1.1 Anatomia del seno

Il seno, o più precisamente mammella, è un organo ghiandolare esocrino situato sopra il muscolo pettorale maggiore ed è composto da cute, tessuto ghiandolare, tessuto connettivo e tessuto adiposo. Al di sotto della cute, si estende una 'coda' del tessuto mammario fino al cavo ascellare, che contiene un gruppo di linfonodi che fanno parte del sistema linfatico. Altri gruppi di linfonodi sono, invece, localizzati sotto lo sterno e dietro la clavicola. È delimitato superiormente dalla seconda o terza costola e inferiormente dalla sesta o settima a seconda della conformazione, mentre si considera come limite mediale la linea margino-sternale e come laterale la linea ascellare media. La funzione principale del seno è la secrezione del latte, resa possibile grazie alla presenza dei dotti galattofori che lo conducono fino al capezzolo. Presenta inoltre caratteristiche estremamente variabili per forma, dimensione e densità del tessuto, le quali dipendono da una serie di fattori, tra cui l'età e lo stato ormonale che ne comportano continue modifiche, ma anche la fisionomia del soggetto, lo sviluppo della componente ghiandolare e la quantità di tessuto adiposo.

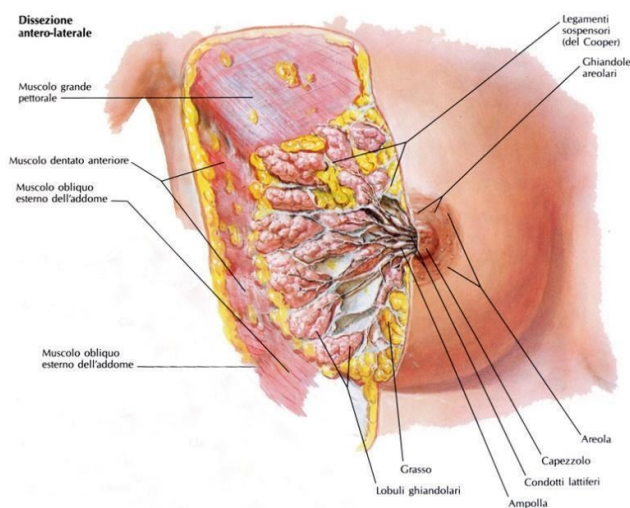


Figura 1 - Ghiandola mammaria dissezione antero-laterale

1.2 Dalla nascita alla menopausa

Il seno assume delle composizioni diverse a seconda dell'avanzamento dello sviluppo della persona: dalla nascita alla pubertà non presenta delle differenze funzionali o strutturali tra

genere maschile e femminile, mentre, a livello istologico, il seno prepuberale in entrambi i sessi è costituito da molteplici dotti rudimentali disposti in modo circolare, e convergenti verso il capezzolo. Con l'inizio della pubertà si manifesta un dimorfismo sessuale, in quanto si verificano cambiamenti evidenti nella morfologia e nella funzione del seno femminile, dovuti alle influenze ormonali degli estrogeni che inducono la proliferazione e la ramificazione dei dotti, nonché la maturazione e la prominente dei capezzoli. Durante la gravidanza si ha una proliferazione e un accrescimento epiteliale dei dotti e degli adenomeri, il quale comporta un aumento del numero di alveoli per lobulo. Al sesto mese di gestazione questo processo termina e la mammella si espande ulteriormente per l'incremento del flusso sanguigno e per l'inizio della secrezione del colostro, un fluido sieroso giallo e appiccicoso, che viene poi sostituito da una vera e propria secrezione di latte. La lattazione inizia 1-4 giorni dopo il parto e può proseguire anche per oltre tre anni, al termine di questo periodo si assiste ad un'atrofia progressiva dei dotti, accompagnata dalla sostituzione del tessuto ghiandolare con il tessuto adiposo. Durante la menopausa le dimensioni del seno possono ridursi in volume e l'elasticità del tessuto connettivo può decrescere notevolmente a causa della diminuzione della quantità di collagene, oppure, ci sono casi in cui vi è un'involuzione del tessuto ghiandolare che può essere sostituito da tessuto adiposo aumentando quindi le dimensioni del seno [1].

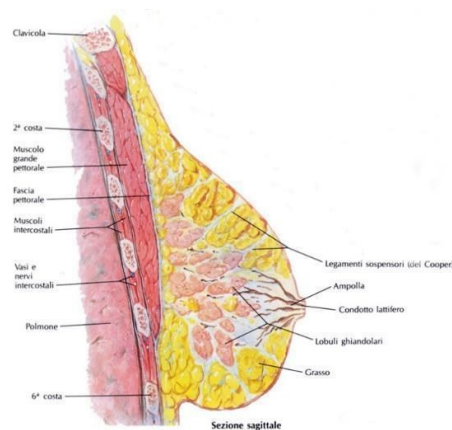


Figura 2 - Ghiandola mammaria sezione sagittale

1.3 La cute

Il tessuto epiteliale del seno è simile a quello del resto del corpo, ma ha alcune caratteristiche specifiche, come la sottigliezza, che lo rendono particolarmente delicato e sensibile. Come anticipato in precedenza la pelle del seno è soggetta a continui cambiamenti causati dalle mestruazioni, dall'allattamento, dalla gravidanza e infine dall'invecchiamento. Il tessuto

epiteliale può essere sezionato in tre regioni: l'epidermide, il derma e l'ipoderma. L'epidermide, è classificato come lo strato più superficiale (con uno spessore che varia tra i 50 e 100 μm) ed è definito come un tessuto epiteliale di rivestimento pavimentoso pluristratificato, ovvero le cellule che lo compongono si trovano le une sulle altre. Il componente principale di queste cellule è la cheratina che, con le sue caratteristiche di durezza e rigidità fornisce protezione meccanica da lesioni o ferite, inoltre funge anche da barriera contro agenti patogeni e liquidi esterni. Il derma, lo strato intermedio, ha uno spessore che varia da 1 ai 3 mm ed è composto principalmente da collagene e fibre di elastina immerse in un liquido di acqua e glicoproteine. Infine, l'ipoderma è lo strato più profondo ed è composto per la quasi totalità da adipociti. Come si può notare la cute risulta estremamente eterogenea, ma, nonostante questo, se è soggetta a tensioni inferiori del 50% può essere considerata come un materiale lineare isotropo [2]. Tuttavia, con l'avanzare dell'età, caratteristiche come l'elasticità o le risposte ad uno sforzo impresso, possono variare notevolmente.

1.4 Il tessuto ghiandolare

Il tessuto ghiandolare del seno è costituito da 15-20 lobi immersi in tessuto adiposo e sedimentati da lamine connettivali organizzate in una rete tridimensionale. Ogni lobo è a sua volta composto da numerosi lobuli contenenti gli alveoli (le unità secernenti ghiandolari), i quali trovano il loro massimo sviluppo durante la lattazione, mentre a riposo, ovvero fuori dal periodo della gravidanza, risultano piccoli, con cellule ipofunzionanti e non secernenti. Ogni lobo ghiandolare fa capo a un proprio dotto escretore (o galattoforo), il quale si divide più volte nei dotti lobulari, che permettono di raggiungere i singoli lobuli. I dotti lobulari proseguono nei condotti alveolari che appaiono caratterizzati da alveoli e si immettono infine in gruppi di alveoli terminali. In superficie, invece, i dotti galattofori, convergono verso il capezzolo dopo essersi dilatati in seni galattofori, dei serbatoi di contenimento del latte. Il tessuto ghiandolare può essere soggetto a cambiamenti durante il ciclo mestruale e la gravidanza. Durante il ciclo mestruale, i livelli di estrogeni e progesterone possono causare un ingrossamento del tessuto ghiandolare e dei dotti galattofori, il che può causare una sensazione di pienezza o tensione al seno, mentre durante la gravidanza, il tessuto ghiandolare del seno può aumentare di volume in preparazione dell'allattamento [3].

1.5 Il tessuto connettivo

Il tessuto connettivo è caratterizzato dalla presenza di cellule (fibroblasti, macrofagi, linfociti, mastociti e adipociti) e fibre, in particolare di collagene, reticolari ed elastiche, immerse in una sostanza gelatinosa, la matrice extracellulare (ECM). La sua funzione è quella di garantire protezione, nutrimento e sostegno ai tessuti degli altri organi, ma essendoci diverse tipologie di tessuto connettivo, questo viene classificato in base a criteri di tipo funzionale e morfologico. Per quanto riguarda il seno, quest'ultimo è attraversato obliquamente da dei legamenti sottili (legamenti di Cooper) costituiti da fasci di fibre di collagene strettamente impaccati tra loro. Questo posizionamento del tessuto connettivo permette di fornire una stabilità strutturale alla mammella, mantenendola elevata e aderente alla gabbia toracica.

1.6 Il tessuto adiposo

Il tessuto adiposo, noto anche come grasso, è il termine anatomico che definisce il tessuto connettivo lasso. Quest'ultimo è composto per la maggior parte da adipociti (cellule il cui nucleo si trova addossato alla membrana a causa di una goccia di grasso contenuta nel citoplasma) e si trova principalmente sotto la pelle, intorno agli organi interni, nel midollo osseo ed è uno dei principali componenti del seno umano [4]. Si origina dal mesoderma e può essere differenziato in tessuto adiposo bianco (WAT) e tessuto adiposo bruno (BAT), i quali hanno funzioni sostanzialmente antagoniste. Il WAT ha il compito di immagazzinare l'energia in eccesso sotto forma di trigliceridi, mentre il BAT è specializzato della dissipazione dell'energia attraverso la produzione di calore [5]. Il tessuto adiposo contiene diversi tipi di cellule oltre agli adipociti, tra cui fibroblasti, macrofagi e cellule endoteliali, oltre che ad acqua (5-30%) e proteine (2-3%). Inoltre, è stato anche identificato come fonte di cellule multipotenti che hanno la capacità di differenziarsi in linee miogeniche, osteogeniche e neurogeniche, se coltivate con gli stimoli appropriati [6].

CAPITOLO 2

MECCANICA DEL TESSUTO ADIPOSO

2.1 Influenza delle caratteristiche biologiche sulle proprietà meccaniche del seno

Le proprietà biomeccaniche biologiche variano notevolmente tra organi e tessuti e sono intrinsecamente legate alla funzione di quest'ultimi (Fig. 1). Il tessuto mammario ha una reologia unica e delle proprietà biomeccaniche che variano nel corso dello sviluppo in risposta alla funzione che devono svolgere, come l'allattamento, o alle situazioni patologiche. Una caratteristica importante del tessuto mammario è la sua non linearità ad alta deformazione, che garantisce ad esempio, una risposta alla trazione tramite un irrigidimento non lineare mentre subisce elevate deformazioni [7]. In generale, le caratteristiche meccaniche dei tessuti molli, quindi conseguentemente anche del seno, consistono in una combinazione complessa di componenti elastici e viscosi, i quali permettono di controllare la deformazione del tessuto [8].

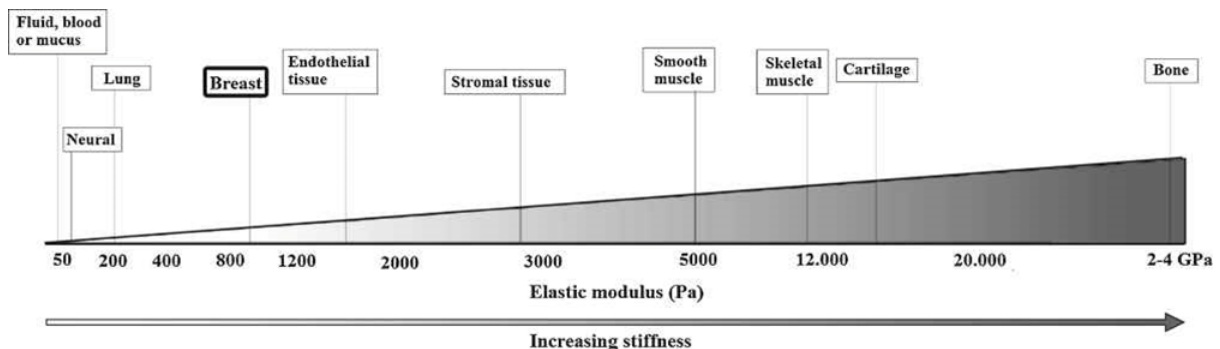


Figura 1

Tra le caratteristiche biologiche che influenzano maggiormente le proprietà meccaniche del tessuto adiposo, si ha lo spessore della pelle. Questa caratteristica è stata misurata con tecniche diverse per ottenere dei risultati più corretti possibile. La prima metodologia utilizzata è stata l'ecografia, che ha permesso di misurare le proprietà della pelle tramite metodi non invasivi [9]. Le misurazioni sono state eseguite in 23 pazienti di sesso femminile posizionando in 16 zone diverse del seno (Fig. 2(a)) una ventosa Dermalab e degli ultrasuoni DermaScan (Figura 2(b)) che hanno permesso di individuare rispettivamente il modulo di elasticità e lo spessore della pelle. A seguito delle analisi è risultato che il modulo elastico trovato era di 344 ± 88 kPa e lo spessore medio della pelle di circa $1,55 \pm 0,25$ mm con un range di 0,83-2,4 mm. Inoltre, sono

state osservate variazioni delle proprietà di elasticità e dello spessore della pelle a seconda della regione in cui è stata eseguita l'indagine, mentre non sono state evidenziate correlazioni dirette tra le proprietà biomeccaniche del seno e l'età del paziente o lo spessore della pelle [9]. La conoscenza delle proprietà elastiche del tessuto mammario potrebbe essere d'aiuto per la comprensione dei cambiamenti causati dalle radiazioni e dall'espansione del tessuto durante la ricostruzione del seno tramite protesi [12].

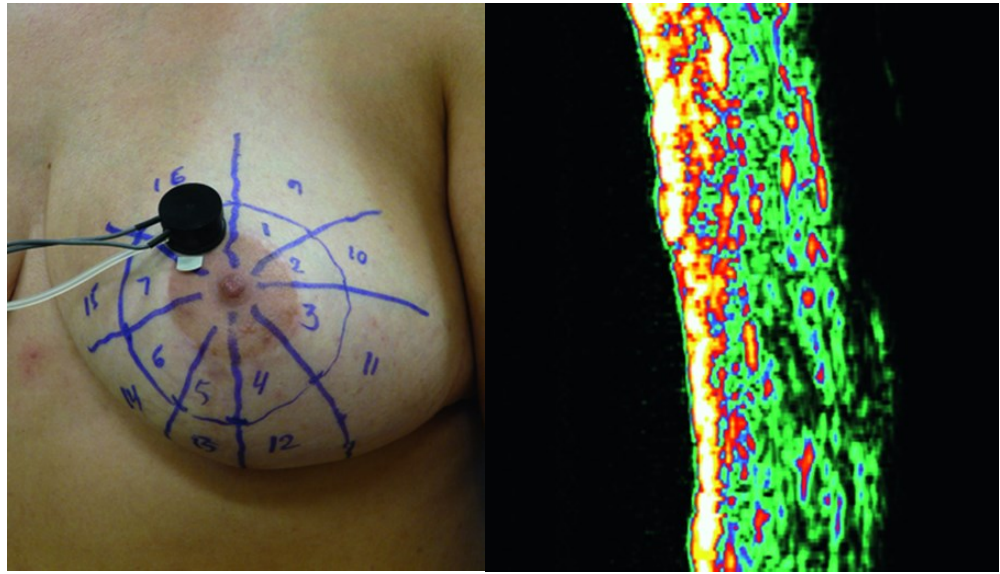


Figura 2(a) – divisione di 16 sezioni del seno pre-analisi, Figura 2(b) – visione della sottigliezza del seno tramite DermaScan

Un'altra tecnica sfruttata per indagare lo spessore della pelle è la mammografia [10]. La misurazione dello spessore della pelle è stata eseguita in 144 donne a seguito di un esame mammografico e ultrasonografico combinato. Le pazienti sono state raggruppate in tre categorie: pre-menopausa, post-menopausa e menopausa chirurgica con trattamento tramite estrogeni. Lo spessore della pelle è stato misurato in quattro regioni (superiore, inferiore, mediale, laterale) di entrambi i seni e successivamente confrontato andando a considerare anche caratteristiche come l'età del paziente, la dimensione del seno e lo stato ormonale. Queste valutazioni hanno permesso di identificare uno spessore normale della pelle del seno compreso tra $1,32 \pm 0,33$ mm. (Fig. 3(a-b)). Si è potuto concludere inoltre che, le dimensioni del seno, l'età, le variazioni regionali e lo stato ormonale dei pazienti devono essere necessariamente considerate nella definizione dello spessore della pelle del seno.

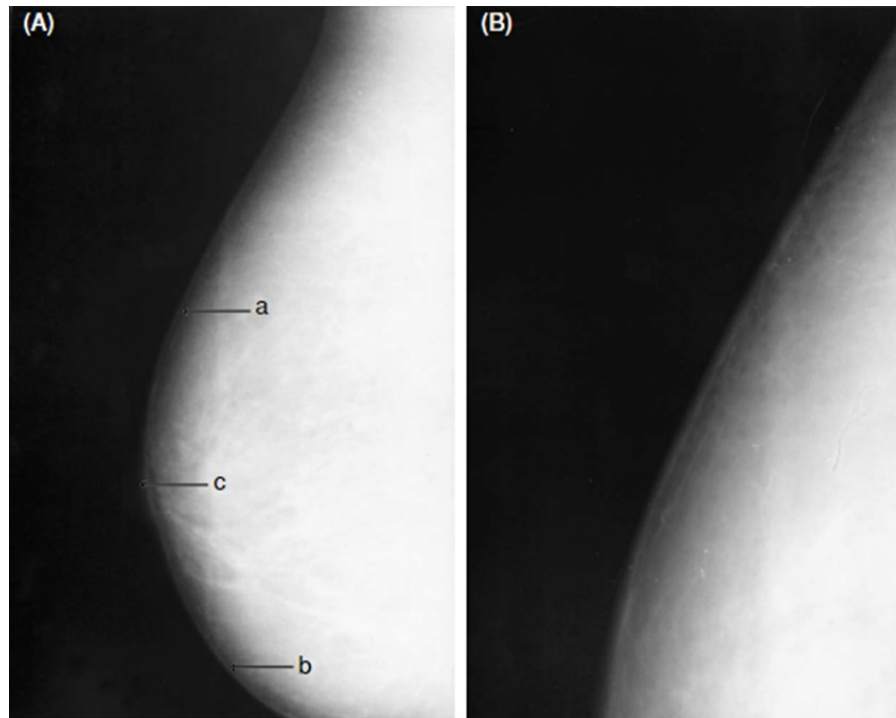


Figura 3(a) - spessore della pelle in: a) regione superiore, b) regione inferiore e c) capezzolo, Figura 3(b) - visione ingrandita della regione superiore del seno

Un'ulteriore tecnica utilizzata per la misurazione dello spessore della pelle è la tomografia computerizzata (CT), combinata con gli algoritmi progettati per determinare le metriche specifiche del seno. Per ottenere questa misura si è utilizzato uno schema di rilevamento del bordo a geometria radiale, implementato sulle immagini CT del seno coronale ricostruito (bCT) per misurare lo spessore della pelle del seno. La valutazione si è basata sui dati bilaterale del volume bCT di 49 donne e sui dati unilaterali del volume bCT di 2 donne, a seguito della quale si è potuto concludere che lo spessore medio della pelle del seno è di circa 1.45 ± 0.30 mm [11].

2.2 Valutazione del modulo elastico del tessuto adiposo

L'ingegneria tissutale si occupa dello studio delle proprietà meccaniche del seno per contribuire a migliorare i protocolli degli esami clinici e chirurgici per le diagnosi di cancro alla mammella. Le misurazioni che si possono eseguire comprendono test in vivo, sfruttando l'elastografia, ed ex vivo, tramite dei test di compressione. L'adozione di queste tecniche associata alle conoscenze biomeccaniche e alle tecniche di imaging ha il potenziale di ridurre significativamente il numero di tumori al seno mal diagnosticati e migliorare le prestazioni chirurgiche per il benessere del paziente [12].

2.2.1 Tecniche in vivo

Per le diagnosi di cancro al seno si può utilizzare la palpazione, ovvero una tecnica che si basa sulla valutazione qualitativa della rigidità del tessuto. Tuttavia quest'ultima risulta insufficiente nel caso di tumori molto piccoli o localizzati, per questo motivo è stata sviluppata una tecnica di imaging chiamata elastografia. Esistono diverse tipologie di elastografia che si differenziano per la modalità di stimolazione dei tessuti, ma tutte hanno in comune la capacità di rilevare le anomalie, quali tumori, e di fornire una panoramica sulle proprietà elastiche dei tessuti in esame [12]. In seguito verranno analizzate due prove di elastografia a risonanza magnetica (RM) sviluppate da Sikus et al. e McKnight et al.. L'elastografia RM misura la distribuzione dell'elasticità del tessuto tramite immagini il cui segnale è proporzionale al modulo elastico della porzione indagata. Queste misure possono essere eseguite con due approcci diversi: il primo che considera la deformazione del tessuto sfruttando la compressione e la successiva decompressione meccanica; mentre, il secondo si basa su onde meccaniche a bassa frequenza applicate all'oggetto e visualizzate tramite una sequenza di impulsi [13].

2.2.1.1 Esperimento di elastografia di Sikus et al.

Lo scopo di questa analisi è quello di dimostrare che l'utilizzo dell'elastografia RM in vivo permette di produrre dei risultati matematicamente corretti riguardanti l'elasticità dei tessuti, nonostante la profondità di penetrazione delle onde di taglio sia limitata a pochi centimetri. L'esperimento vede il paziente esaminato in posizione prona tramite un trasduttore che viene fissato lateralmente in modo da comprimere leggermente uno dei due seni. Il trasduttore è composto da una piccola bobina con il suo asse perpendicolare al campo magnetico principale B_0 , il quale si accoppia con il momento meccanico M prodotto dalla corrente sinusoidale. Questa disposizione fa in modo che solo la componente longitudinale dell'oscillazione venga utilizzata per l'eccitazione dei tessuti.

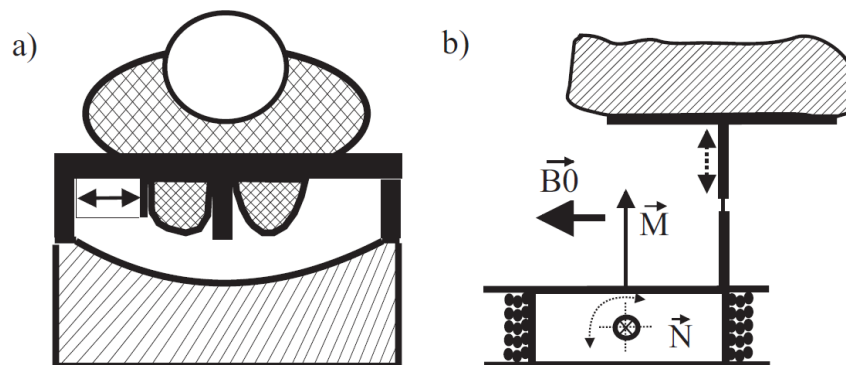


Figura 4 - schematizzazione del setup sperimentale

Il tempo di base che stabilisce il periodo dell'esperimento è espresso come $T = 1000/v$ ms, dove v rappresenta la frequenza dell'eccitazione meccanica in unità di Hertz (Hz). Prima e dopo l'impulso, viene inserito un gradiente sinusoidale aggiuntivo per la codifica del flusso con la stessa frequenza v del trasduttore, in modo da visualizzare l'onda meccanica. È stato possibile, inoltre, regolare il ritardo temporale TD tra l'onda meccanica e l'inizio della sequenza di risonanza magnetica, per permettere di misurare l'onda in diverse fasi durante il periodo di oscillazione meccanica, il che è fondamentale per una tecnica di ricostruzione avanzata. La sincronizzazione viene applicata solo una volta all'inizio della scansione delle varie sezioni, le quali vengono misurate per un totale di circa 30 minuti. È essenziale consentire un ritardo sufficiente tra l'inizio delle vibrazioni meccaniche e l'inizio della sequenza di risonanza magnetica per evitare effetti transitori indesiderati nell'immagine, che invaliderebbero la misurazione. Si è dimostrato che un ritardo temporale di circa 2 secondi è sufficientemente lungo per attenuare gli effetti dipendenti dal tempo. Nella Figura 5(a) mostra un'immagine di sottrazione ottenuta dalla differenza tra l'immagine nativa e una immagine acquisita poco dopo l'iniezione del mezzo di contrasto gadolinio-DTPA.

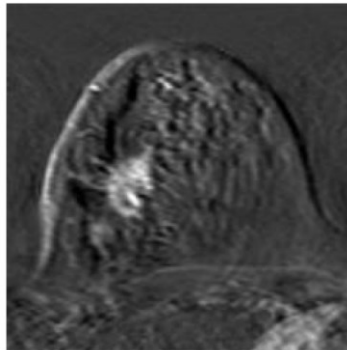


Figura 5(a) - immagine con mezzo di contrasto

I risultati dell'elastografia, ottenuti con una frequenza di eccitazione di 60 Hz, hanno dimostrato una buona penetrazione dell'onda meccanica in tutto il seno mentre, a frequenze più elevate (>100 Hz), l'attenuazione ha notevolmente soppresso la propagazione dell'onda. Il rapporto di Poisson è stato impostato a 0.49 e il coefficiente di attenuazione a $100 \text{ kg} * \text{dm}^{-3} * \text{s}^{-1}$. La massa tumorale era ben visibile nell'immagine elastografica, con un'elasticità massima di circa 3.5 kPa. Il tessuto circostante, invece, presentava valori di elasticità di circa 0.5-1 kPa per la parte adiposa, mentre la zona ghiandolare aveva un modulo di Young di circa 2-2.5 kPa. Sulla base di questi risultati, è stato possibile concludere che l'elastografia RM rappresenta una scelta

valida per la misurazione del modulo elastico dei tessuti in vivo, in quanto fornisce informazioni preziose sulla composizione e l'elasticità dei tessuti del seno [13].

2.2.1.2 Esperimento di elastografia di McKnight et al.

Questa analisi ha come obiettivo quello di valutare la fattibilità della tecnica di imaging RM per lo studio qualitativo delle proprietà meccaniche del seno. Gli esami elastografici sono stati svolti su 12 donne: sei sane e sei con neoplasie mammarie, di un'età compresa tra i 24 e 38 anni. La tecnica testata in questo studio utilizza uno stress vibratorio per generare onde di taglio dell'oggetto da rappresentare. I piccoli spostamenti ciclici associati alla propagazione delle onde di taglio vengono visualizzati con una tecnica di imaging RM sensibile al movimento. Le immagini che rappresentano l'onda propagante vengono quindi elaborate per generare una mappa quantitativa della rigidità del taglio nei piani di imaging [14]. I pazienti sono stati collocati in posizione prona, con il seno posizionato tra due piastre di contatto, con una minima compressione applicata per la stabilizzazione. L'apparecchiatura contiene bobine radiofrequenza a matrice di fase posizionate dietro ciascuna piastra di guida (Fig.6).

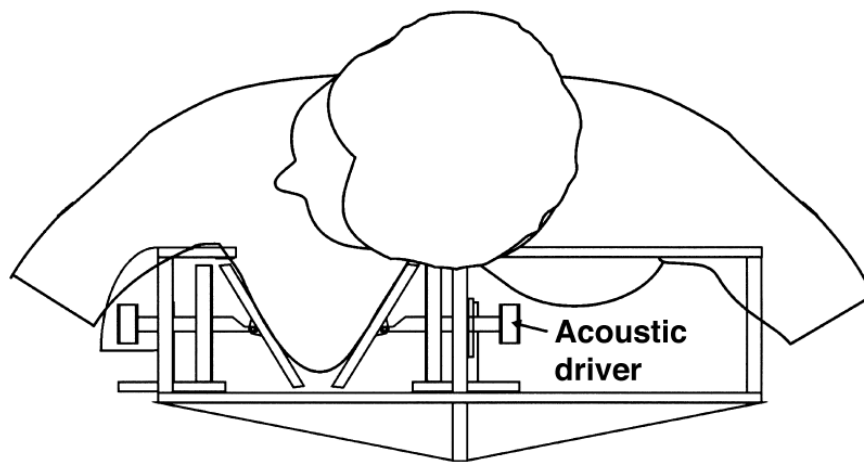


Figura 6 - rappresentazione dell'apparecchiatura utilizzata per l'esame elastografico

Sono state utilizzate frequenze di onde di taglio di 100 Hz (Fig.7(a-b)) e ogni immagine ha richiesto 13-40 secondi per l'acquisizione. Le sequenze di misurazioni sono state ripetute quattro o otto volte con valori incrementati di θ (sfasamento di fase tra il movimento meccanico e i gradienti di codifica del movimento).

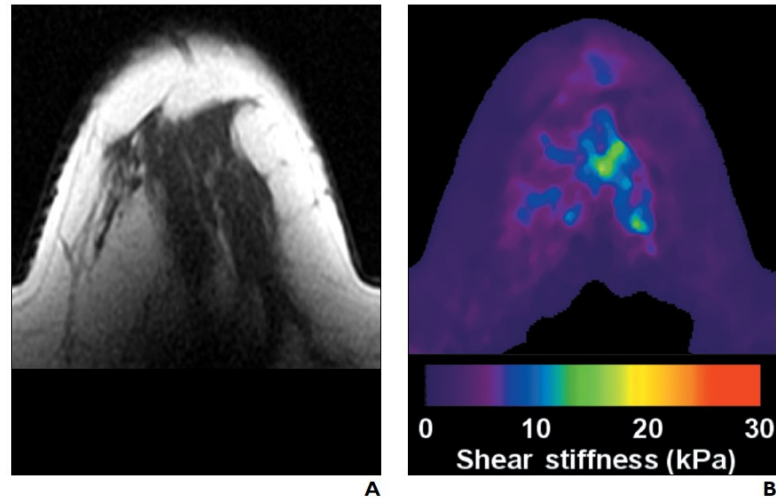


Figura 7(a) - immagine RM di un paziente sano di 27 anni,
 Figura 7(b) - elastogramma a 100Hz con rappresentazione del modulo elastico

A seguito delle misurazioni l'elastografia ha mostrato che la rigidità del tumore è definita in una forbice di $2,6 \pm 0,4$ kPa, mentre si è visualizzata una modesta eterogeneità nel modulo elastico dei tessuti sani del seno, riportando valori di elasticità più elevati nei tessuti ghiandolari rispetto al tessuto adiposo (Fig. 8). Il valore medio per il tessuto adiposo è risultato di $3,3 \pm 1,9$ kPa mentre quello ghiandolare di $7,5 \pm 3,6$ kPa. I risultati confermano l'ipotesi secondo cui la tecnica elastografica RM prototipica del seno possa rappresentare quantitativamente le proprietà elastiche dei tessuti mammari in vivo [14].

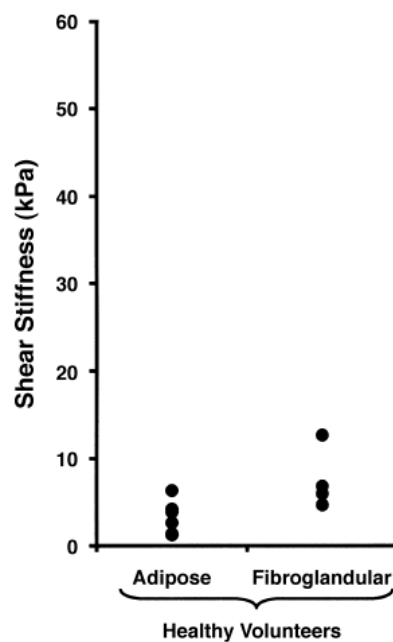


Figura 8 - grafico sulle stime del modulo elastico basate sull'elastografia RM del tessuto adiposo e ghiandolare

I risultati dei test in vivo sono stati riassunti nella Tabella 1.

IN VIVO		
AUTORI	Sikus et al.	McKnight et al.
ADIPOSO	0.5–1 kPa: frequenza 60Hz	3.3 kPa: frequenza 100Hz
GHIANDOLARE.	2–2.5 kPa: frequenza 60Hz	7.5 kPa: frequenza 100Hz

Tabella 1

2.2.2 Tecniche ex vivo

I test sperimentali ex-vivo rappresentano un'utile metodologia per esaminare le proprietà meccaniche dei tessuti molli poiché consentono di isolare il tessuto in esame dal resto dell'organismo, eliminando influenze esterne indesiderate e considerando specificamente il suo comportamento meccanico. Questi test possono essere di compressione (confinati o non confinati), dove il tessuto molle viene sottoposto a una forza di compressione controllata lungo un asse specifico. Questo tipo di prova fornisce preziose informazioni sul modo in cui il tessuto risponde ai carichi compressivi e sulla sua capacità di deformarsi e assorbire energia. Oppure, ci sono i test di indentazione che indagano il comportamento del tessuto quando è soggetto a una forza concentrata e localizzata. I dati relativi alla forza e allo spostamento raccolti in questi esami possono essere utilizzati per calcolare la deformazione e determinare il modulo di Young del tessuto. In seguito verranno analizzati i risultati ottenuti da due test di indentazione sviluppati da Samani et al. e Wellman et al., i quali rappresentano una fonte preziosa di informazioni, in quanto contribuiscono a una maggiore comprensione del comportamento meccanico dei tessuti molli e alla progettazione di nuove applicazioni mediche e biotecnologiche. Questa conoscenza sono fondamentali per lo sviluppo di terapie e trattamenti

mirati, nonché per il progresso nell'ingegneria dei tessuti e nelle ricerche sulla rigenerazione tissutale [14][15].

2.2.2.1 Esperimento di elastografia di Samani et al.

Lo scopo di questo studio è catalogare i risultati delle misurazioni del modulo elastico dei tessuti mammari in ex vivo utilizzando la tecnica di indentazione da parte di un piccolo penetratore cilindrico a estremità piatta. Per misurare il modulo di Young del tessuto mammario normale, compresi i tessuti adiposi e ghiandolari, è stata sviluppata una tecnica che parte dal presupposto che si possa ottenere un campione uniforme di tessuto. Questa prova può essere applicata a campioni di tessuto normale, oltre a tumori di grandi dimensioni, da cui è possibile asportare un campione di tessuto omogeneo mantenendo intatto il margine del tumore. In questo sistema di misurazione, sono stati considerati 169 campioni di tessuto di dimensioni $\sim 15 \times 15 \times 10 \text{ mm}^3$ e sono stati sezionati da tessuti mammari post-chirurgici, solitamente ottenuti da mammoplastiche di riduzione. Dopo il taglio, ogni campione di tessuto è stato indentato con un piccolo penetratore cilindrico a estremità piatta con diametro di 5 mm. Durante il test, il campione di tessuto è stato posto in un piccolo portacampione cilindrico mentre era circondato da un sottile strato di soluzione salina per mantenere costante l'umidità (Fig. 9).

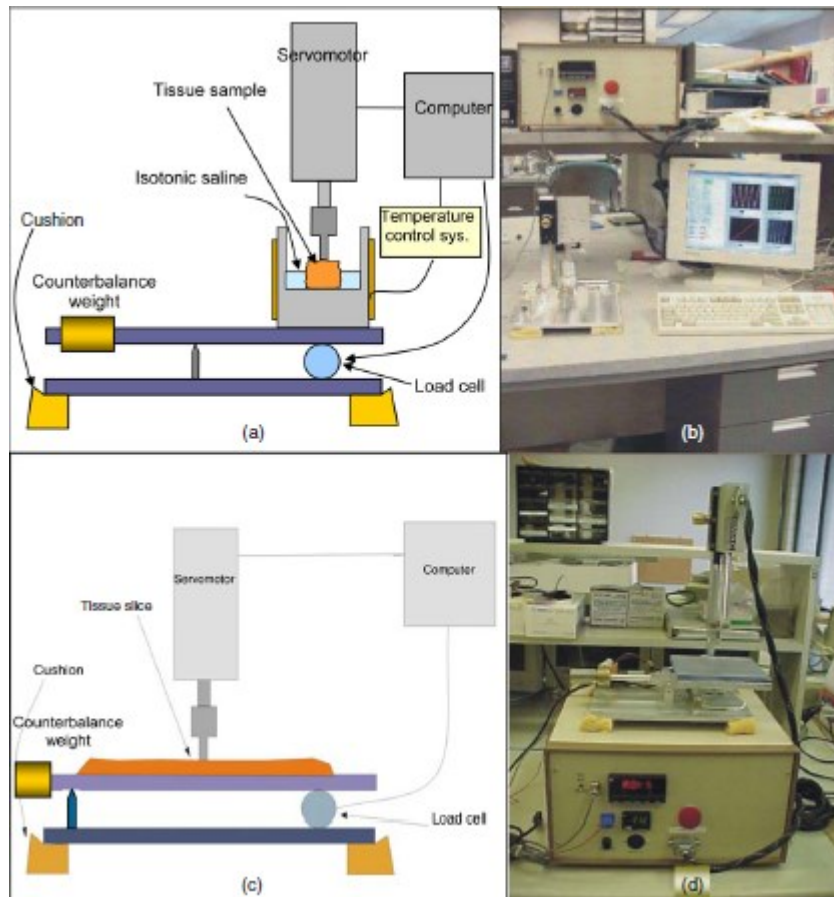


Figura 9 - rappresentazione della strumentazione utilizzato nel test

Il penetratore è stato azionato con un controller programmato per applicare un movimento sinusoidale con ampiezza picco-picco di 0,5 mm e una frequenza di 0,1 Hz. Prima di acquisire i dati di forza e spostamento, sono stati applicati al tessuto 25 cicli di movimento preconditionato. Dopo il preconditionamento, il numero di cicli è stato impostato su cinque per i quali sono stati acquisiti i dati. Per migliorarne l'accuratezza, la misurazione è stata ripetuta quattro volte con diverse rotazioni del campione con 3-5 minuti di riposo tra un test e l'altro per consentire al tessuto di rilassarsi (Fig. 10). A seguito delle misurazioni., i dati ottenuti hanno mostrato che i tessuti grassi e ghiandolari presentano proprietà meccaniche praticamente identiche con un modulo di Young rispettivamente di $3.25 \pm 0.9 \text{ kPa}$ e $3.24 \pm 0.6 \text{ kPa}$ [16].

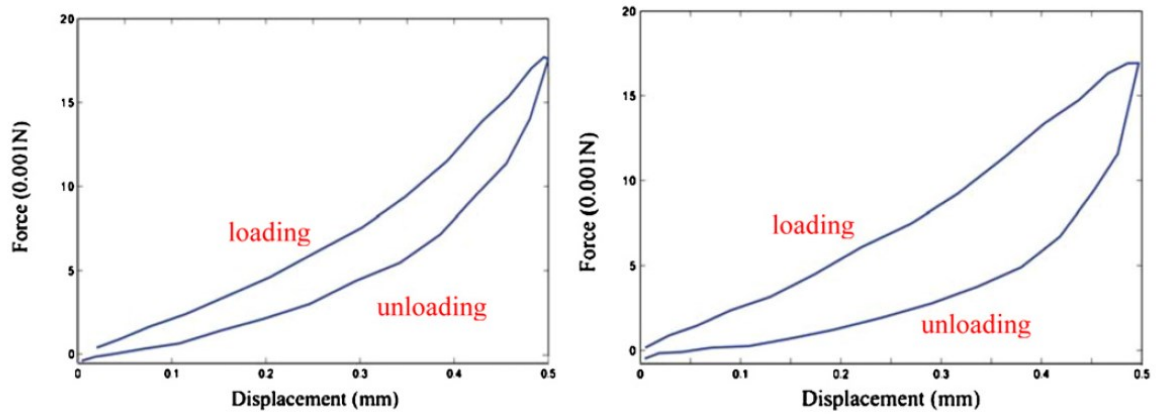


Figura 10 - grafici dei cicli forza-spostamento del tessuto adiposo e ghiandolare

2.2.2.1 Esperimento di elastografia di Wellman et al.

Questa analisi mira a determinare se esiste una connessione tra il grado di deformazione di un tessuto e la diagnosi istologica corrispondente. Per raggiungere questo obiettivo, è stato eseguito un completo studio delle caratteristiche del tessuto per ciascuna deformazione, impiegando il test di indentazione a punzonamento. È stato creato un dispositivo portatile, utilizzabile in sala operatoria, per valutare le proprietà meccaniche dei tessuti immediatamente dopo la loro rimozione dal corpo. Ogni campione di tessuto è stato tagliato con dimensioni minime di 10 mm x 10 mm e uno spessore di almeno 2 mm, e quindi fissato al dispositivo di fissaggio vuoto (Fig. 11(a-b)).

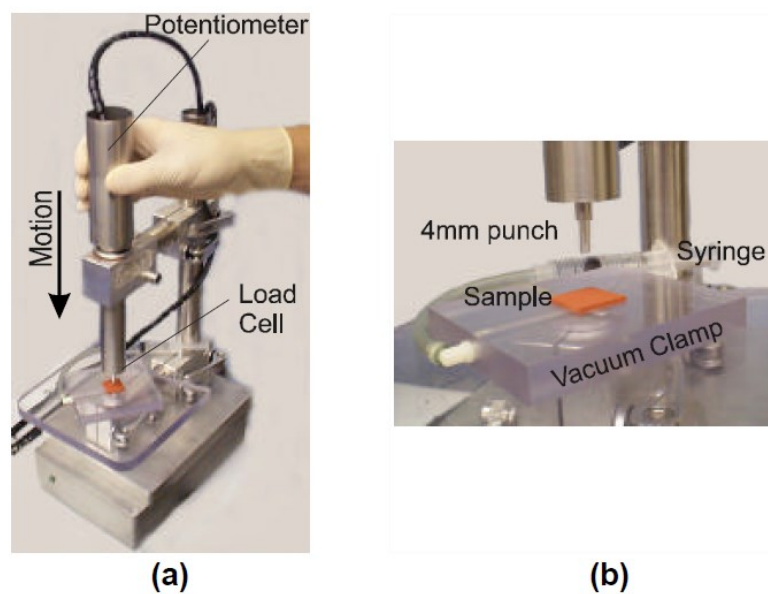


Figura 11(a-b) - strumento della prova di indentazione

Durante il test, un punzone piatto con un diametro di 4 mm ha esercitato carichi ripetuti sul campione, mentre la forza applicata veniva misurata tramite una cella di carico uniassiale. La massima rigidità misurabile tramite questo strumento è di 28 MPa, limitata dalla stessa rigidità meccanica dello strumento. Per stimare il modulo elastico del tessuto mediante il test di indentazione a punzonamento, sono state fatte alcune ipotesi: si è considerato che diversi tipi di tessuto (come tessuto adiposo e ghiandolare) possano essere trattati come omogenei e che il loro comportamento in risposta alla compressione sia approssimativamente isotropo. Al fine di valutare anche gli effetti viscosi, i dati sono stati raccolti a diverse velocità di deformazione, ovvero circa 50%/s, 200%/s, 1000%/s e 2000%/s. Inoltre, sono stati eseguiti almeno dieci tentativi di indentazione su ciascun campione (Fig. 12). Dopo aver acquisito i dati relativi alla forza e allo spostamento, essi sono stati analizzati e sono state elaborate curve per estrarre le costanti del modello esponenziale e i moduli elastici a vari livelli di deformazione. In particolare, il tessuto adiposo mostra una risposta quasi lineare, con un modulo elastico di circa $4.8 \pm (2.5)$ kPa a una deformazione dell'1% (0.01), che aumenta a circa $17.4 \pm (8.4)$ kPa quando la deformazione raggiunge il 15% (0.15). Un risultato rilevante emerso da questo studio è che i tessuti del seno possono essere considerati principalmente elastici e che le loro proprietà non dipendono in modo significativo dalla velocità di deformazione.

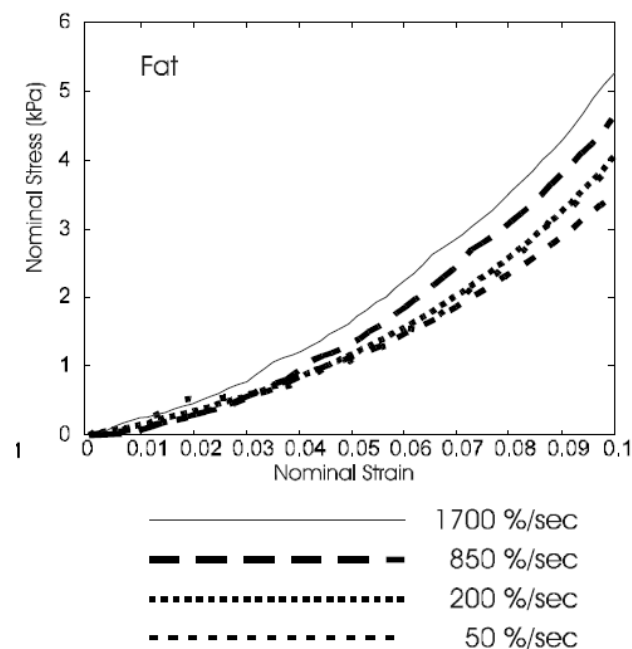


Fig. 12 - curve tensione - deformazione per il tessuto adiposo a quattro diverse velocità

I risultati dei test ex vivo sono stati riassunti nella Tabella 2.

EX VIVO

AUTORI	Samani et al.	Wellman at al.
ADIPOSO	3.25±(0.9) kPa: compresso 5%	4.8±(2.5) kPa: tirato 1% 17.4±(8.4) kPa: tirato 15%
GHIANDOLARE.	3.24±(0.61) kPa: compresso 5%	17.5±(8.6) kPa: tirato 1% 271.8±(67.7) kPa: tirato 15%

Tabella 2

CAPITOLO 3

HYDROGEL E LE SUE APPLICAZIONI

3.1 Hydrogel

L'hydrogel è un biomateriale caratterizzato da una rete idrofila tridimensionale di tipo ionico o covalente in grado di assorbire e trattenere grandi quantità di acqua e/o fluidi corporei grazie alla sua struttura porosa, [17] inoltre le sue diverse caratterizzazioni possono influenzarne il modulo elastico, la degradazione e le proprietà strutturali [18].

3.1.1 Proprietà meccaniche

L'hydrogel è divenuto oggetto di studio da parte dell'ingegneria tissutale per la possibilità di essere facilmente iniettato in sito, garantendo quindi un impianto poco invasivo. L'obiettivo di questo biomateriale è quello di fungere da scaffold per la formazione di un nuovo tessuto, motivo per cui deve possedere proprietà meccaniche analoghe a quelle del tessuto da sostituire. Non possiamo caratterizzare univocamente le sue proprietà meccaniche, quali l'elasticità, la resistenza alla trazione e il comportamento viscoelastico, in quanto quest'ultime sono dettate dal polimero e dalla sua degradazione [19]. Tuttavia, possiamo definirne il comportamento di base a livello microscopico e macroscopico; macroscopicamente deve risultare rigido e fornire una stabilità adeguata per poter sostenere il nuovo tessuto, mentre microscopicamente deve garantire siti di attacco appropriati, segnali meccanici e fattori di crescita per assicurare la crescita e la proliferazione delle cellule del tessuto [20].

3.1.2 Degradazione

La degradazione dell'hydrogel è particolarmente importante a livello dell'ingegneria tissutale, tipicamente lo scaffold garantisce un sostegno ed una stabilità temporanea per poi essere lentamente sostituito da un nuovo tessuto [21]. Ci sono tre meccanismi di base per la degradazione: l'idrolisi, la scissione enzimatica e la dissoluzione. L'idrolisi, ovvero la rottura dei legami chimici tramite una reazione con acqua, è generalmente utilizzata per degradare gli hydrogel sintetici. La scissione enzimatica viene sfruttata per gli hydrogel naturali (collagene, acido ialuronico) e la qualità della degradazione è determinata dal numero di enzimi presenti nel tessuto. Infine, la dissoluzione sfrutta diverse reazioni chimiche che prevedono lo scioglimento dell'hydrogel in soluzione. Questo processo deve garantire la generazione di un

prodotto non eccessivamente tossico per limitare le infiammazioni. Solitamente i prodotti di degradazione degli hydrogel naturali sono meno tossici di quelli sintetici e danno luogo ad una risposta immunitaria inferiore. La degradazione può essere manipolata alterando la densità delle reti polimeriche che compongono l'hydrogel o mediante incorporazione di enzimi sensibili alle sequenze peptidiche [19].

3.2 Classificazione

Come già anticipato, gli hydrogel presentano delle caratteristiche meccaniche e di degradazione, oltre che di elasticità e resistenza, diverse a seconda della tipologia a cui appartengono. Possiamo quindi differenziarlo in tre categorie: naturale, sintetico e biologico [22][23].

3.2.1 Hydrogel naturale

La caratteristica principale degli hydrogel naturali è la capacità di modificare le loro proprietà meccaniche in funzione della necessità. Per farlo, possono cambiare l'intreccio delle catene polimeriche che li compongono oppure legarsi ad altri materiali in modo da creare degli scaffold ad hoc [19]. Risultano inoltre essere biocompatibili, bioattivi e permettono alle cellule di attaccarsi e proliferare sopra la loro superficie senza modificarle. Tuttavia, un grande aspetto negativo degli hydrogel naturali è il fatto che sono facilmente riassorbibili dal tessuto biologico [22][23].

3.2.1.1 Collagene

Il collagene è caratterizzato dalle proprietà di biocompatibilità e biodegradabilità, le quali lo rendono ottimo per l'incapsulamento cellulare. A questo riguardo, i ricercatori Yao, Zhang, Lin e Luan fecero un esperimento per dimostrarlo: misero delle microsfeere di collagene in coltura in vitro per 4 settimane, in seguito alle quali sono risultate macroscopicamente simili ai lobuli di tessuto adiposo e successivamente le iniettarono nella sottocute di alcuni topi, ottenendo un tessuto adiposo vascolarizzato. In un successivo loro studio crearono delle microsfeere di collagene contenenti adipociti incapsulati, successivamente queste furono ricoltivate in vitro con delle cellule endoteliali ombelicali per incoraggiarne la vascolarizzazione. L'hydrogel verrà poi iniettato nella testa di un topo per osservare la crescita e la variazione di tessuto adiposo per 12 settimane ad intervalli di 4. A conclusione dell'analisi osservarono che il collagene VI è più specifico per il tessuto adiposo ECM e per l'adipogenesi, infatti quest'ultimo, aggiunto ad uno scaffold di polimeri di solfato di eparano ha mostrato un maggiore attaccamento dell'adipocita

e un tasso di adipogenesi in rigenerazione del tessuto adiposo sottocutaneo. Pertanto, l'aggiunta di collagene VI agli hydrogel può essere più benefico per la rigenerazione del tessuto adiposo rispetto al collagene I [24]. Un'indagine condotta dal reparto di farmacia di Taiwan e guidata da Ming-Thau Sheu et al. si è concentrata sull'analisi del modulo elastico del collagene, in particolare esaminando l'effetto della glutaraldeide come agente di reticolazione per rafforzare le matrici di collagene. Utilizzando un approccio di analisi meccanica dinamica (DMA), è stata valutata la viscoelasticità della soluzione di gel di collagene risultante. È emerso che tutte le soluzioni di gel di collagene esaminate seguivano il modello di conformità di Creep sviluppato da Kelvin-Voigt. Per preparare una soluzione di gel di collagene al 1% m/m, è stato sciolto il collagene in acido acetico al 3%, seguito dall'aggiunta di diverse concentrazioni di glutaraldeide (0-0,2%) e successiva incubazione a 43°C per 24 ore. Le proprietà viscoelastiche di queste soluzioni sono state poi misurate mediante l'utilizzo di un analizzatore meccanico DMA7e. I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'estensione della reticolazione dei gruppi amminici terminali del collagene aumenta all'aumentare delle concentrazioni di glutaraldeide. Si è osservato che la reticolazione completa si raggiungeva quando la concentrazione di glutaraldeide superava lo 0,12%, in presenza di una concentrazione di collagene dell'1% m/m. Nella Tabella 3 vengono riportate le proprietà viscoelastiche delle soluzioni di gel di collagene reticolato con diverse concentrazioni di glutaraldeide. L'asterisco (*) indica un incremento significativo della viscosità e una progressiva trasformazione in caratteristiche solide [25].

CONCENTRAZIONE (%) GLUTARALDEIDE	MODULO ELASTICO (kPa)
0,00	4,23 ± 0,24
0,03	3,49 ± 0,29
0,12	4,28 ± 0,23
0,15*	6,34 ± 0,16
0,20*	7,23 ± 0,14

Tabella 3

3.2.1.2 Acido Ialuronico (AI)

L'acido ialuronico come biomateriale viene sfruttato per l'idratazione del tessuto, per la diffusione di nutrienti, per l'organizzazione dei proteoglicani e la differenziazione cellulare, dimostrando biocompatibilità e biodegradabilità. Solitamente vengono utilizzati dei derivati dell'acido ialuronico, dati dalla modificazione della loro struttura polimerica, in quanto il metabolismo molto rapido dell'AI lo rende inadatto per supportare la crescita cellulare [26]. Il comportamento termosensibile dell'acido ialuronico insieme ai biomateriali sintetici può essere utile per la rigenerazione del tessuto adiposo. In particolare, sono state incapsulate delle cellule staminali di derivazione adiposa (ADSCs) con un composto di hydrogel di HA termoreattivo iniettabile a temperatura ambiente, queste hanno supportato la sopravvivenza delle cellule formando un gel che presentava delle adeguate proprietà biodegradabili in condizioni fisiologiche post iniezione. La formazione del gel si è verificata solo una volta che la temperatura del composto ha superato la soglia critica inferiore, impostata alla temperatura fisiologica del corpo (circa 37°C). Successivamente l'hydrogel è stato iniettato nella regione sottocutanea dorsale di topi, che hanno confermato la termoreattività nel passaggio dalla soluzione HA/ADSCs al gel in condizioni fisiologiche. A seguito di questo esperimento si è dimostrato che gli ADSCs hanno una buona sopravvivenza e una morfologia arrotondata fino a cinque giorni dopo l'impianto [27]. L'acido ialuronico è anche stato studiato come hydrogel composito con il chitosano, per la consegna di fattori adipogenici ed enzimi per l'ingegneria dei tessuti. Alcuni studi [27] hanno indagato la possibilità di fornire insulina a tessuti nativi tramite un hydrogel HA/chitosano per indurre adipogenesi. I sistemi di erogazione dell'insulina richiedono la capacità di percepire la presenza e il livello di glucosio nei tessuti nativi, per questo motivo gli hydrogel sensibili al glucosio rispondono agli stimoli esterni con un conseguente rigonfiamento, necessario per il rilascio di farmaci. L'uso di un polisaccaride naturale come l'acido ialuronico in un tale dispositivo crea un microambiente biomimetico e si traduce in una migliore biocompatibilità, questo ci permette di concludere che il rilascio di fattori adipogenici tramite hydrogel potrebbe potenzialmente migliorare la formazione di tessuto adiposo ingegnerizzato [28].

3.2.2 Hydrogel sintetici

Gli hydrogel sintetici sono un'opzione interessante nell'ingegneria tissutale perché facilmente modificabili e riproducibili. La dinamica di formazione, la densità di reticolazione e le proprietà di degradazione possono essere progettate per soddisfare i requisiti richiesti dal caso in esame, infatti, la maggior parte degli hydrogel sintetici richiedono modifiche superficiali per consentire l'attacco e la proliferazione delle cellule all'interno dello scaffold [24]. Nel contesto della coltura

cellulare, gli hydrogel sintetici rappresentano una scelta estremamente vantaggiosa come materiali di substrato. La loro attrattiva deriva dalla loro capacità di emulare una vasta gamma di proprietà meccaniche che sono rilevanti per i tessuti biologici. Queste proprietà meccaniche vengono spesso caratterizzate utilizzando i moduli di Young, che fungono da misura della rigidità o della flessibilità di un materiale. La flessibilità degli hydrogel sintetici si manifesta nella loro capacità di coprire un intervallo eccezionalmente ampio di valori di modulo di elastico, da un'estremità possono replicare la morbidezza e la delicatezza del midollo osseo, con un valore di modulo di Young di circa 0,5 kPa; il che li rende idonei per ricreare l'ambiente tridimensionale e la flessibilità richiesti per la crescita di cellule che si trovano normalmente in contesti tissutali morbidi. Mentre dall'altra parte sono in grado di simulare la rigidità dell'osso compatto, con valori di modulo di Young che superano i 15.000 kPa. La capacità di coprire una forbice così ampia di proprietà meccaniche apre la porta a una varietà di applicazioni nella ricerca e nell'ingegneria tissutale [29]. Tuttavia, uno dei limiti di questo materiale è la produzione di prodotti nocivi a causa della degradazione dei ponteggi sintetici, i quali possono causare un cambiamento nel pH dell'ambiente locale o un'inflammation, portando ad una guarigione ritardata e gravi complicazioni dopo l'impianto di innesto [22] [23][30].

3.2.2.1 PEG

Gli idrogel a base di PEG (poli (glicole etilenico)) sono efficaci come ponteggi per l'ingegneria dei tessuti adiposi grazie alle loro reti di polimeri idrofili in grado di assorbire grandi quantità di acqua; consentono una diffusione illimitata di nutrienti e metaboliti a basso peso molecolare e hanno una somiglianza fisiologica con l'ECM. Uno studio del 2005 [31] ha esaminato l'idoneità di quattro diversi ponteggi basati sul PEG per la vitalità e l'adesione delle cellule. Questi quattro scaffold hanno variato in termini di proprietà, di degradazione e di aggiunta di varie sequenze del peptide, inoltre si è potuto concludere che i cambiamenti morfologici subiti dalle cellule durante la proliferazione richiedono uno spazio adeguato all'interno dell'hydrogel, che non è presente all'interno di hydrogel non degradabili.

3.2.2.2 PEGDA

Il diacrilato di poli(etilene)glicole (PEGDA) è stato analizzato per creare hydrogel di dimensioni e forma variabili. Per farlo si sono differenziate le BMSC (cellule staminali derivate dal midollo osseo) per una settimana, tramite mezzo adipogenico prima di essere incapsulate all'interno del PEGDA. A distanza di quattro settimane da questo processo è risultato che, sia la valutazione in vitro che in vivo, mostravano la presenza di adipociti maturi. Hanno valutato

inoltre che, se i BMSC non pre-differenziati vengono incapsulati in hydrogel PEGDA non mostrano alcuna formazione di adipociti maturi [32]. Patel, Smith e Patrick (2005) hanno studiato la viscosità, l'elasticità e i moduli viscosi dei PEGDA, attraverso dei test reologici hanno permesso di concludere che questi hydrogel diventano più solidi all'aumentare della tensione. Inoltre, anche se quest'ultimi possono recuperare fino al 78% della loro altezza originale dopo una deformazione del 15%, il tessuto adiposo non si comporta allo stesso modo; infatti, non recupera oltre la gamma di deformazioni testate. Pertanto, il PEGDA è più elastico del tessuto adiposo e per questo può essere utile come scaffold nell'ingegneria dei tessuti adiposi [33].

3.2.3 Hydrogel biologici

I biomateriali biologici stanno diventando sempre più comuni nelle strategie di ingegneria tissutale. Il processo di decellularizzazione permette di rimuovere il contenuto cellulare del tessuto, lasciando però intatte le proprietà biologiche della matrice extracellulare [34]. Quest'ultima, una volta decellularizzata, verrà macinata fino a diventare una polvere sottile e poi trasformata in un hydrogel iniettabile [22][23].

3.2.3.1 DAT

Il DAT (tessuto adiposo decellularizzato umano) è costituito principalmente da collagene di tipo I, promuove la proliferazione e induce la differenziazione adipogenica delle ADSCs. Durante la digestione della pepsina e degli acidi, questo biopolimero può essere degradato in monomeri, che ad un pH e una temperatura adatti possono essere polimerizzati per creare una rete di hydrogel [35]. Inoltre, l'incorporazione di DAT all'interno degli hydrogel ha il potenziale di migliorare la vitalità cellulare a lungo termine. Questo hydrogel è stato studiato come sistema per la rigenerazione del tessuto adiposo con lo scopo di verificare che lo scaffold di DAT recluterebbe le cellule ospiti e ne indurrebbe la differenziazione in adipociti maturi. La rigidità meccanica dei DAT influenza il comportamento cellulare, inclusi la migrazione, la proliferazione e la differenziazione degli ADSCs. Sono stati fatti numerose valutazioni con il DAT come soggetto, tra i quali:

1. È stato svolto uno studio dai ricercatori Kim, Choi e Cho, che prevedeva l'iniezione di DAT e metilcellulosa nella regione sottocutanea dorsale di topi per valutarne la reazione. Dopo tre settimane, l'innesto ha dimostrato un tessuto adiposo ben organizzato, verificando che un

ponteggio cellulare libero può attivamente reclutare cellule da tessuti originali ai fini dell'ingegneria dei tessuti adiposi [36].

2. I ricercatori Zhang, Lu, Cao e Toh nel 2016 hanno studiato il potenziale adipogenico del DAT caricato con il fattore di crescita del fibroblasto, iniettandolo in vivo. Dopo circa 6 – 12 settimane dall'iniezione si è dimostrata una crescita significativa del tessuto adiposo. Al contrario, nel caso in cui il DAT venga iniettato senza fattore di crescita del fibroblasto, sarà completamente riassorbito dopo circa 12 settimane [37].

3. Young, Ibrahim, Hu e Christman, hanno valutato il DAT come ponteggio acellulare per la rigenerazione del tessuto adiposo, a seguito dello studio hanno suggerito che quest'ultimo potrebbe essere utilizzato per fornire ADSCs al sito difettoso con maggiore concentrazione e coerenza rispetto ai metodi di lipotrasferimento attuali e quindi ottenere un maggiore successo ricostruttivo [38].

4. Turner, Yu, Bianco, Watkins e Flynn, nel 2012, hanno incorporato le ADSCs nei microcarriers di DAT, dimostrandone il potenziale adipogenico in vitro. Successivamente sono state impiantate nel tessuto sottocutaneo di un ratto e dopo 28 giorni hanno dimostrato una ritenzione stabile del volume dell'innesto e una maggiore angiogenesi all'interno del costrutto [39].

5. Nel 2014, Cheung et al., hanno studiato la risposta degli ADSCs umani incapsulati all'interno di un'impalcatura comprendente DAT come matrice bioattiva all'interno del chitosano del glicole metacrilato oppure della condroitina solfato metacrilato come meccanismo di consegna. Hanno dimostrato che il DAT induce naturalmente la differenziazione adipogenica degli ADSCs senza la necessità di un'integrazione del mezzo di coltura con fattori di differenziazione, dunque, il tessuto decellularizzato ha dimostrato di essere vantaggioso per molti aspetti dell'ingegneria dei tessuti adiposi. Tuttavia, ci sono preoccupazioni per quanto riguarda il potenziale di immunogenicità e la presenza di agenti infettivi [40].

6. Choi et al. hanno invece ideato un metodo di decellularizzazione dei tessuti adiposi mediante trattamenti fisici, chimici ed enzimatici che eliminano efficacemente gli acidi nucleici dalla ECM senza alterarne la morfologia o la struttura. Questa ECM è stata impiantata in un modello di topo senza causare alcuna reazione immunologica significativa, suggerendo che, la matrice

extracellulare contenente segnali biologici e chimici del tessuto originale dopo decellularizzazione, potrebbe essere uno scaffold adatto per l'ingegneria del tessuto adiposo autologo e allotrapianto [41].

3.3 Analisi delle complicazioni durante l'iniezione di PAAG

Il PAAG è un hydrogel sintetico composto da particelle di poliacrilammide sospese in un gel a base d'acqua, che gli garantiscono una consistenza morbida e gelatinosa. Inoltre, ha la capacità di trattenere l'acqua, il che può contribuire ad aumentare temporaneamente il volume delle zone trattate. A differenza di alcuni altri fillers temporanei che vengono gradualmente riassorbiti dal corpo nel tempo, il PAAG è considerato un materiale non riassorbibile, il che significa che le particelle rimangono nel sito di iniezione in modo permanente. Questo biomateriale è stato utilizzato in passato come sostituto del tessuto adiposo mammario per migliorare il volume e la forma dei seni, ma ci sono state preoccupazioni sulla sicurezza e sull'efficacia del materiale. Gli effetti collaterali e le complicazioni associati all'uso di PAAG possono includere infezioni, asimmetrie, irregolarità, formazione di noduli e possibili problemi diagnostici nei test di screening mammario, come la mammografia. A causa delle preoccupazioni legate alla sicurezza e alla mancanza di dati a lungo termine sull'efficacia e sulle conseguenze per la salute, molti medici e organizzazioni mediche sconsigliano l'uso di PAAG come sostitutivo del tessuto adiposo mammario. In alternativa, quando si tratta di aumentare il volume dei seni, sono disponibili approcci più sicuri e ben studiati, come l'uso di filler a base di acido ialuronico o l'implantologia con protesi mammarie [42]. Per confermare la pericolosità di questo biomateriale si possono citare le 235 donne che, tra l'ottobre del 2005 e il giugno del 2008, si sono presentate in un ospedale in Cina lamentando complicanze a seguito di un'iniezione di PAAG. L'età delle pazienti era compresa tra i 20 e i 38 anni e la distanza temporale tra l'intervento e la comparsa di complicazioni risultava compresa tra i 6 mesi e i 10 anni. I gel iniettati erano di due tipologie: Interfall®, prodotto in Ucraina e applicato in 98 casi e Amazingel®, prodotto in Cina e iniettato nei restanti 137 casi. I dati clinici per la quantità e la posizione del PAAG iniettato sono stati resi disponibili per soli 176 casi, dove è risultato che la quantità di gel era compresa tra i 50 e i 260ml (con una media di circa 152,3 ml) per seno, per lo più inserito nel piano subghiandolare. Nei restanti 59 pazienti, queste informazioni non sono state rese disponibili in quanto risultano perse o non menzionate. Le complicanze più comuni dopo l'aumento del seno con PAAG sono state indurimento del seno e presenza di masse (nel 78,9% dei pazienti, dei quali 161 con multiple lesioni, mentre 24 con singola lesione e 34 casi lamentavano durezza del seno) e dolore (nel 67,2% dei casi). Altre complicazioni

comprendevano deformità mammarie o asimmetria in 47 pazienti (20%), problemi psicologici in 29 pazienti (12,3%), mastalgia con movimento in 20 casi (8,5%) e migrazione del gel in 21 pazienti (8,9%). A seguito di questa indagine è risultato che 171 pazienti (circa il 72,8% del totale) ha riportato più di una complicazione contemporaneamente. La strategia del personale medico per la gestione delle operazioni prevedeva che tutti i 171 pazienti fossero divisi in due gruppi: uno con masse palpabili e l'altro senza. Nel gruppo di massa palpabile, l'obiettivo era quello di escludere la neoplasia mammaria e ripristinare la forma del seno dopo l'evacuazione del gel. Mentre, nel gruppo che non presentava masse palpabili, i problemi da affrontare riguardavano le infezioni e complicazioni di funzionale o mentale. I pazienti sono stati sottoposti ad un controllo tramite risonanza magnetica prima dell'operazione, per escludere la neoplasia mammaria e determinare la posizione del PAAG iniettato, inoltre sono stati informati che la rimozione completa del gel iniettato era impossibile e che sarebbe stata necessaria un'ulteriore risonanza magnetica di controllo dopo sei mesi dell'intervento di rimozione [43].

3.3.1 Primo caso clinico in esame

Il primo caso analizzato coinvolge una donna di 27 anni, la quale ha lamentato complicazioni circa due anni dopo essere stata sottoposta a iniezione di PAAG per l'aumento del seno. I problemi che presentava al momento del ricovero comprendevano diversi indurimenti palpabili con dolore e tensioni sviluppati in entrambi i seni, disagio alla schiena e asimmetria mammaria, oltre che ad un aspetto innaturale. (Fig. 1(a)) La risonanza magnetica ha dimostrato la presenza di PAAG nel tessuto sottocutaneo toracico, nella ghiandola mammaria e nel muscolo pettorale maggiore, per questo motivo è stata applicata un'incisione periareolare dove prevedevano di trovare grumi di gel. (Fig. 1(b)) Le capsule fibrose sono state asportate e sono stati estratti più di 100 ml di hydrogel, inoltre è stata eseguita una mastectomia parziale sottocutanea per rimuovere più prodotto possibile. Durante 6 mesi di follow-up, i seni sono diventati morbidi senza segni indesiderati o deformità e, anche se c'erano tracce di PAAG residuo all'interno dei seni, l'esame della risonanza magnetica ha ritenuto inutile un'ulteriore operazione per tentare di rimuoverne ulteriori tracce [43].

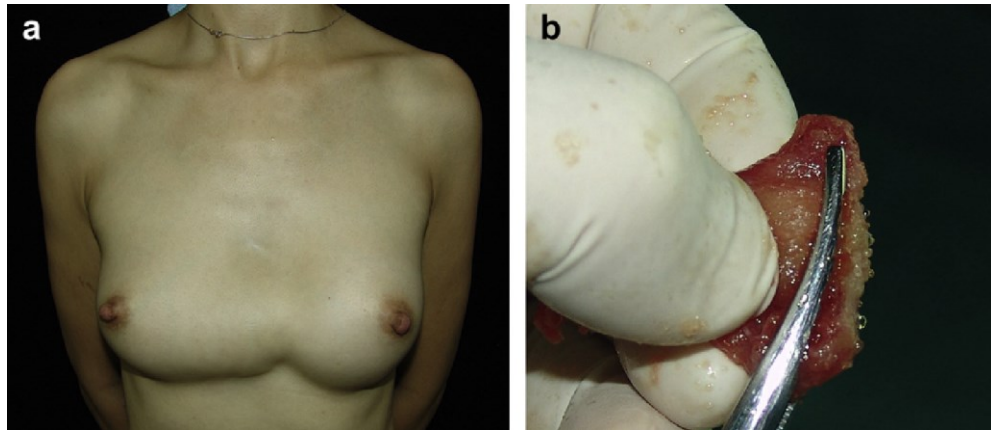


Figura 1(a) visione anteriore pre-operazione, 1(b)grumi di gel estrusi post-operazione

3.3.2 Secondo caso clinico in esame

Questo caso indaga su una paziente di 29 anni, la quale era preoccupata per la reazione avversa al PAAG che le ha causato un'evidente depressione e insonnia nel corso dell'anno successivo all'operazione. L'esame fisico ha rivelato che i seni erano morbidi, indolori e non presentavano masse palpabili significative, l'unico problema evidente risultava il seno destro leggermente più basso rispetto al sinistro (Fig. 2(a)), inoltre la risonanza magnetica aveva evidenziato lesioni emisferiche negli spazi retromammari. Durante l'operazione, la maggior parte del PAAG, che risultava granulare, giallo, gelatinoso e incapsulato nello spazio retromammario è stato eliminato. A seguito dell'evacuazione dell'hydrogel sono state impiantate delle protesi mammarie in gel di silicone McGhan®. Il recupero postoperatorio è stato regolare e la forma del seno risultava soddisfacente, inoltre la risonanza magnetica svolta tre mesi post-operazione non ha rivelato alcun residuo evidente PAAG (Fig. 2(b – c)) [43].

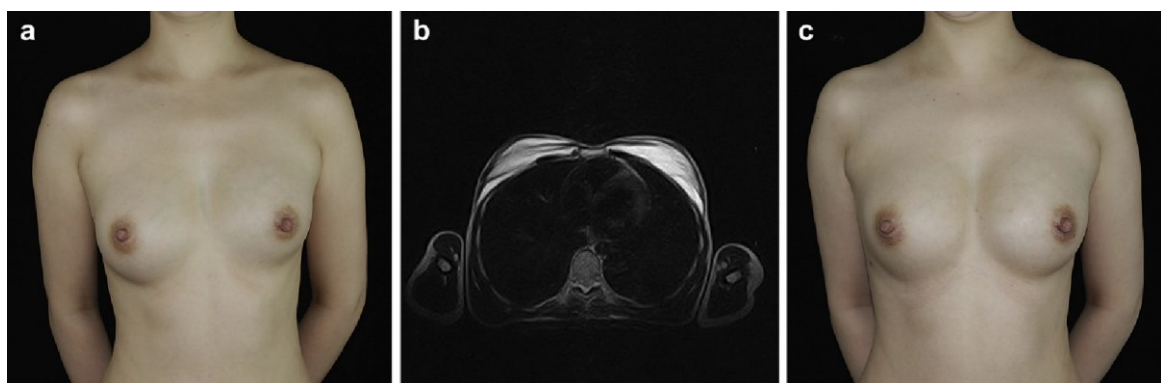


Figura 2(a) visione anteriore dell'asimmetria dei seni, 2(b – c) risonanza magnetica e aspetto dei seni 3 mesi post-operazione

3.3.3 Terzo caso clinico in esame

Questo caso clinico vede una paziente di 32 anni con un'evidente atrofia mammaria post allattamento, la cui situazione è notevolmente peggiorata a seguito dell'iniezione di PAAG in quanto ha reso i volumi del seno circa 300 ml più grandi del normale. Le procedure di rimozione PAAG e di mammoplastica riduttiva verticale sono state eseguite simultaneamente e durante le quali sono state rivelate molte macchie nere sparse distribuite su tutta la superficie. Quando il PAAG, che all'apparenza risultava giallo chiaro e granuloso è stato deturpato, la parte posteriore del seno è stata ovviamente distrutta e mantenendo solo una piccola vascolarizzazione. Successivamente, le parti centrali e inferiori del tessuto mammario sono state asportate, il seno rimanente è stato separato dalla fascia pettorale ed è stata eseguita una mastoplastica. A seguito dell'operazione di rimozione l'aspetto del seno risultava soddisfacente e i sintomi preoperatori sono stati completamente alleviati [43].



Figura 3(a) condizione pre-operazione, 3(b) visione della massa con macchie nere trovata durante l'operazione, 3(c) condizione post-operazione

A seguito delle operazioni il periodo di follow-up variava da 2 mesi a 27 mesi (con una media di 5/6 mesi), in questo periodo i sintomi che venivano lamentati si sono risolti completamente in 214 pazienti con l'evacuazione chirurgica del gel, mentre 11 pazienti hanno continuato a lamentare dolore al seno, anche se il gel è stato significativamente ridotto. Inoltre, tre pazienti hanno dichiarato che c'erano piccoli noduli nel sito originale dell'iniezione, i quali sono stati eliminati completamente dopo una successiva operazione chirurgica di rimozione del residuo PAAG. Inoltre, 108 pazienti hanno richiesto un impianto immediato di protesi mammarie di silicone durante l'operazione di rimozione, di questi: 104 casi hanno raggiunto un eccellente risultato postoperatorio senza complicazioni, tre hanno sviluppato una contrattura capsulare, mentre una sola paziente ha avuto una reazione infiammatoria 10 giorni dopo l'operazione. In questo caso si è proceduto a rimuovere la protesi per attenuare totalmente i sintomi e dopo circa quattro mesi si è reimpiantata la protesi al seno con successo [43].

CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo studio è quello di andare ad analizzare le caratteristiche meccaniche del tessuto adiposo del seno e di verificarne una possibile sostituzione tramite il biomateriale hydrogel. Dopo un'iniziale descrizione sull'anatomia del seno, si sono indagati i moduli elastici del tessuto adiposo mammario ricavati tramite esperimenti in vivo ed ex vivo. I test in vivo analizzati sono stati eseguiti sfruttando l'elastografia MRI (risonanza magnetica) mentre, in termini di esperimenti ex-vivo, i test meccanici hanno utilizzato la tecnica dell'indentazione. È importante considerare che le variazioni nel modulo elastico non sono limitate esclusivamente ai differenti tipi di tessuto mammario, ma coinvolgono anche le variazioni interne di ciascun tipo di tessuto. Queste discrepanze si manifestano principalmente nelle misurazioni ex vivo e potrebbero derivare da una serie di fattori complessi, come il numero limitato di campioni disponibili e le diverse posizioni da cui vengono prelevati tali campioni, l'eterogeneità dei tessuti stessi e fattori eziologici coinvolti, nonché possibili errori sistematici legati alle tecniche di misurazione o ai protocolli sperimentali impiegati [23]. Tuttavia, è importante sottolineare che tali divergenze non sono solamente riscontrabili nei contesti di esperimenti ex-vivo, ma anche negli esperimenti in vivo è possibile che si verifichino variazioni nei risultati tra diversi studi, nonostante l'adozione di tecniche di imaging simili. Nel campo dell'elastografia infatti, i risultati sono strettamente correlati alla quantità di precompressione applicata, la quale può influenzare significativamente i risultati ottenuti [23]. Pertanto, diventa cruciale determinare con precisione il livello di precompressione ottimale da utilizzare per ciascun specifico tipo di tessuto mammario. In seguito sono riassunti tutti i valori ricavati dalle analisi dei test.

	IN VIVO		EX VIVO	
AUTORI	Sikus et al.	McKnight at al.	Samani et al.	Wellman at al.
ADIPOSO	0.5–1 kPa: frequenza 60Hz	3.3 kPa: frequenza 100Hz	3.25±(0.9) kPa: compresso 5%	4.8±(2.5) kPa: tirato 1% 17.4±(8.4) kPa: tirato 15%
GHIANDOLARE	2–2.5 kPa: frequenza 60Hz	7.5 kPa: frequenza 100Hz	3.24±(0.61) kPa: compresso 5%	17.5±(8.6) kPa: tirato 1% 271.8±(67.7) kPa: tirato 15%

Gli studi in vivo hanno permesso di quantificare le proprietà elastiche dei tessuti del seno mediante l'uso di imaging MRI per le onde di taglio acustiche. Gli elastogrammi quantitativi hanno rivelato una modesta variabilità nella rigidità al taglio dei tessuti del seno. Sia gli

esperimenti condotti da Sikus et al. che quelli di McKnight et al. hanno mostrato che i tessuti ghiandolari presentano valori di elasticità leggermente superiori rispetto al tessuto adiposo. È interessante notare che variando la frequenza delle onde si osserva un triplicare del valore del modulo elastico. Dagli esperimenti ex vivo condotti da Wellman et al., emerge che è possibile modellare i tessuti mammari come elastici, con proprietà indipendenti dalla velocità di deformazione. La conclusione principale di questo studio è che vi è una significativa correlazione tra la composizione istologica del tessuto e la sua rigidità. Inoltre, si è osservato che la rigidità dei tessuti aumenta con l'aumento della precompressione. Il tessuto adiposo mostra una risposta più lineare rispetto agli altri tessuti (la sua rigidità cambia solo di un fattore di 3 dalla deformazione 0.01 alla deformazione 0.15), mentre il tessuto canceroso presenta un aumento della rigidità superiore a 25 volte. Considerando gli esperimenti condotti da Samani et al., si è riscontrato che i tessuti adiposo e ghiandolare presentano proprietà meccaniche praticamente identiche, con un modulo di Young di 3,25 kPa sotto piccole deformazioni. Questi risultati sono in accordo con gli studi condotti da McKnight et al., che hanno utilizzato l'MRI mammaria in vivo. Da ciò si deduce che, quando si utilizza una maglia FE per simulare le deformazioni del tessuto mammario sotto piccole sollecitazioni, potrebbe non essere necessaria una segmentazione dettagliata tra tessuti adiposi e ghiandolari.

L'ultima parte di questa trattazione ha come protagonisti i biomateriali hydrogel, i quali sono ampiamente studiati nel campo dell'ingegneria tissutale anche grazie al loro accurato mimetismo della ECM adiposa e alla capacità di incapsulare efficacemente le cellule. Un'altra caratteristica che li rende appetibili per le applicazioni cliniche è la loro capacità di poter essere iniettati per garantire impianti tramite tecniche minimamente invasive e in maniera estremamente precisa. Durante la trattazione dei tre tipi di biomateriali hydrogel: naturali, sintetici e biologici, si è indagato anche sulle loro proprietà elastiche. Per quanto riguarda il collagene, biomateriale naturale, si è visto come le proprietà di elasticità variassero con la concentrazione di glutaraldeide, il che lo rende particolarmente versatile.

TESSUTO ADIPOSO	COLLAGENE
3.3 kPa: frequenza 100Hz → McKnight et all.	3,49 ± 0,29: 0,03% di glutaraldeide
4.8±(2.5) kPa: tirato 1% → Wellman et all.	4,28 ± 0,23: 0,12% di glutaraldeide

Inoltre, è interessante sottolineare come emergano delle notevoli affinità tra i valori del modulo di Young ottenuti attraverso le prove condotte in vivo da McKnight et al. e le rilevazioni effettuate ex vivo da Wellman et al. rispetto ai risultati ottenuti da Ming-Thau Sheu et al.

mediante l'utilizzo della glutaraldeide. Questa rilevante connessione tra dati provenienti da differenti fonti di ricerca ci fornisce un quadro chiaro e intrigante: i materiali testati mostrano una tendenza alla coerenza nella loro risposta meccanica di fronte a sollecitazioni esterne. Queste coincidenze nei valori del modulo di Young, sia tra le prove in vivo ed ex vivo sia rispetto alle metodologie di trattamento chimico con glutaraldeide, suggeriscono che i materiali in esame conddivideranno una simile risposta sotto sforzi meccanici. Questo potrebbe indicare la presenza di caratteristiche intrinseche che determinano una coesione nei comportamenti meccanici, indipendentemente dalle specificità delle modalità di prova o delle modifiche chimiche applicate. In definitiva, l'analisi di queste analogie tratte da fonti di ricerca diverse offre una base solida per formulare l'ipotesi che gli hydrogel naturali possano essere considerati come opzioni potenziali per fungere da sostituti del tessuto adiposo mammario. Andando a considerare sui moduli elastici dei biomateriali sintetici, la loro variazione nei valori evidenzia un'ampia versatilità che li rende idonei a essere utilizzati come alternative al grasso del seno. Questa versatilità si manifesta ancor di più quando tali biomateriali sintetici vengono combinati con le proprietà intrinseche degli hydrogel naturali. Tale sinergia potrebbe garantire il raggiungimento di un volume di tessuto adiposo adeguato per le necessità di ricostruzione del seno dopo una mastectomia, specialmente quando associato a impianti. Alla luce di questa trattazione evidenziata nel capitolo 3 è evidente che non tutti i biomateriali sintetici possono essere ritenuti idonei come sostituti del tessuto adiposo mammario. Un esempio è rappresentato dal PAAG, che manifesta una serie di limitazioni significative. Questo materiale non solo si rivela inadeguato nel tentativo di replicare la consistenza, la sensazione e la funzionalità intrinseca del tessuto adiposo naturale, ma comporta anche un rischio notevole per la salute delle pazienti. La bassa biocompatibilità del PAAG si traduce infatti in un aumento delle probabilità di infezioni, infiammazioni e reazioni avverse, il che potrebbe avere conseguenze gravi per la salute generale delle pazienti sottoposte a interventi utilizzando tale materiale. In conclusione, l'accurata valutazione delle proprietà meccaniche, biologiche e di sicurezza dei biomateriali sintetici riveste un ruolo fondamentale nella scelta di alternative al tessuto adiposo mammario. Mentre alcuni materiali dimostrano un potenziale notevole per integrarsi con successo nel corpo umano, come suggerito dalle analogie e dalle ricerche citate, altri, come il PAAG, devono essere scartati in virtù dei rischi e delle limitazioni che presentano. La continua ricerca e lo sviluppo di biomateriali migliori e più adatti rappresentano un percorso cruciale per migliorare l'efficacia e la sicurezza delle procedure di ricostruzione mammaria e di aumento del seno.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Ellis, H., & Mahadevan, V. (2013). Anatomy and physiology of the breast. *Surgery Oxford*). <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2012.10.018>
- [2] Gurpreet Singh and Arnab Chanda 2021 *Biomed. Mater.* **16** 062004
- [3] Healthline, "Breast Anatomy: Your Breast Tissue and Why It Matters."
- [4] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2548-56; PMID:15181022; <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2004-0395>.
- [5] Wenting Zhu & Celeste M. Nelson (2013) Adipose and mammary epithelial tissue engineering, *Biomatter*, 3:3, e24630, DOI: 10.4161/biom.24630
- [6] Gomillion CT, Burg KJ. Stem cells and adipose tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27:6052-63; PMID:16973213; <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.07.033>.
- [7] Price BD, Gibson AP, Tan LT, Royle GJ (2010) An elastically compressible phantom material with mechanical and X-ray attenuation properties equivalent to breast tissue. *Phys Med Biol* 55:1177–1188. doi:10.1088/0031-9155/55/4/018
- [8] Ramião, N., Martins, P. S., Rynkevic, R., Ribeiro, M. I., Barroso, M. G. T., & Santos, D. (2016). Biomechanical properties of breast tissue, a state-of-the-art review. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 15(5), 1307–1323. <https://doi.org/10.1007/s10237-016-0763-8>
- [9] Sutradhar A and Miller M J 2013 *In vivo* measurement of breast skin elasticity and breast skin thickness *Ski Res. Technol.* 19 e191–9
- [10] Ulger H, Erdogan N, Kumanlioglu S and Unur E 2003 Effect of age, breast size, menopausal and hormonal status on mammographic skin thickness *Ski Res. Technol.* 9 284–9
- [11] Huang S Y, Boone J M, Yang K, Kwan A L C and Packard N J 2008 The effect of skin thickness determined using breast CT on mammographic dosimetry *Med. Phys.* 35 1199–206

- [12] Teixeira AM and Martins P (2023), A review of bioengineering techniques applied to breast tissue: Mechanical properties, tissue engineering and finite element analysis. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11:1161815. doi: 10.3389/fbioe.2023.1161815
- [13] Sinkus, R., Lorenzen, J., Schrader, D., Lorenzen, M., Dargatz, M., & Holz, D. (2000). High-resolution tensor MR elastography for breast tumour detection. *Physics in Medicine and Biology*, 45(6), 1649–1664. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/45/6/317>
- [14] McKnight, A. L., Kugel, J. L., Rossman, P. J., Manduca, A., Hartmann, L. C., & Ehman, R. L. (2002). MR elastography of Breast Cancer: Preliminary results. *American Journal of Roentgenology*, 178(6), 1411–1417. <https://doi.org/10.2214/ajr.178.6.1781411>
- [15] P. S. Wellman, R. D. Howe, E. Dalton, K. A. Kern. (1999) Breast Tissue Stiffness in Compression in Correlated to Histological Diagnosis
- [16] Samani, A., Zubovits, J., & Plewes, D. B. (2007). Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples. *Physics in Medicine and Biology*, 52(6), 1565–1576. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/6/002>
- [17] Sivashanmugam, A., Kumar, R., Priya, M. V., Nair, S. V., & Jayakumar, R. (2015). An overview of injectable polymeric hydrogels for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 72, 543–565. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.05.014>
- [18] Maitra, J., & Shukla, V. K. (2014). Cross-linking in hydrogels—A review. *American Journal of Polymer Science*, 4, 25–31.
- [19] Drury, J. L., & Mooney, D. J. (2003). Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24, 4337–4351. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00340-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00340-5)
- [20] Zhu, J., & Marchant, R. E. (2011). Design properties of hydrogel tissueengineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices*, 8, 607–626. <https://doi.org/10.1586/erd.11.27>

- [21] Brandl, F. P., Seitz, A. K., Teßmar, J. K., Blunk, T., & Göpferich, A. M. (2010). Enzymatically degradable poly (ethylene glycol) based hydrogels for adipose tissue engineering. *Biomaterials*, *31*, 3957–3966. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.128>
- [22] O'Halloran NA, Dolan EB, Kerin MJ, Lowery AJ, Duffy GP. Hydrogels in adipose tissue engineering—Potential application in post-mastectomy breast regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12:2234–2247. <https://doi.org/10.1002/term>.
- [23] Teixeira AM and Martins P (2023), A review of bioengineering techniques applied to breast tissue: Mechanical properties, tissue engineering and finite element analysis. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11:1161815. doi: 10.3389/fbioe.2023.1161815
- [24] Tan, H., & Marra, K. G. (2010). Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. *Materials*, *3*, 1746–1767. <https://doi.org/10.3390/ma3031746>
- [25] Yuan Zhang, Yong Wang, Ying Li, Yunpeng Yang, Mingyuan Jin, Xiaoying Lin, Zeming Zhuang, Kai Guo, Tao Zhang, Weiqiang Tan, Application of Collagen-Based Hydrogel in Skin Wound Healing, *Gels*, 10.3390/gels9030185, 9, 3, (185), (2023)
- [26] Tan, H., Ramirez, C. M., Miljkovic, N., Li, H., Rubin, J. P., & Marra, K. G. (2009). Thermosensitive injectable hyaluronic acid hydrogel for adipose tissue engineering. *Biomaterials*, *30*, 6844–6853. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.08.058>
- [27] Fan, M., Ma, Y., Zhang, Z., Mao, J., Tan, H., & Hu, X. (2015). Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels–Alder chemistry for adipose tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, *56*, 311– 17. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.04.004>
- [28] Singelyn, J. M., Sundaramurthy, P., Johnson, T. D., Schup-Magoffin, P. J., Hu, D. P., Faulk, D. M., ... Salvatore, M. (2012). Catheter-deliverable hydrogel derived from decellularized ventricular extracellular matrix increases endogenous cardiomyocytes and preserves cardiac function post-myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, *59*, 751–763. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.10.888>

- [29] Wiley, K. L., Sutherland, B. P., Ogunnaike, B. A., & Kloxin, A. M. (2022). Rational Design of Hydrogel Networks with Dynamic Mechanical Properties to Mimic Matrix Remodeling. *Advanced Healthcare Materials*, 11(7), 2101947. <https://doi.org/10.1002/adhm.202101947>
- [30] Kayabolen, A., Keskin, D., Aykan, A., Karshioğlu, Y., Zor, F., & Tezcaner, A. (2017). Native extracellular matrix/fibroin hydrogels for adipose tissue engineering with enhanced vascularization. *Biomedical*
- [31] Patel, P. N., Gobin, A. S., West, J. L., & Patrick, C. W. (2005). Poly (ethylene glycol) hydrogel system supports preadipocyte viability, adhesion, and proliferation. *Tissue Engineering*, 11, 1498–1505. <https://doi.org/10.1089/ten.2005.11.1498>
- [32] Alhadlaq, A., Tang, M., & Mao, J. J. (2005). Engineered adipose tissue from human mesenchymal stem cells maintains predefined shape and dimension: implications in soft tissue augmentation and reconstruction. *Tissue Engineering*, 11, 556–566. <https://doi.org/10.1089/ten.2005.11.556>
- [33] Patel, P. N., Smith, C. K., & Patrick, C. W. (2005). Rheological and recovery properties of poly (ethylene glycol) diacrylate hydrogels and human adipose tissue. *Journal of Biomedical Materials Research Part a*, 73, 313–319. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30291>
- [34] Singelyn, J. M., Sundaramurthy, P., Johnson, T. D., Schup-Magoffin, P. J., Hu, D. P., Faulk, D. M., ... Salvatore, M. (2012). Catheter-deliverable hydrogel derived from decellularized ventricular extracellular matrix increases endogenous cardiomyocytes and preserves cardiac function post-myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 59, 751–763. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.10.888>
- [35] Tan, Q. W., Zhang, Y., Luo, J. C., Zhang, D., Xiong, B. J., Yang, J. Q., ... Lv, Q. (2017a). Hydrogel derived from decellularized porcine adipose tissue as a promising biomaterial for soft tissue augmentation. *Journal of Biomedical Materials Research Part a*, 105, 1756–1764. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36025>

- [36] Kim, J. S., Choi, J. S., & Cho, Y. W. (2017b). Cell-free hydrogel system based on a tissue-specific extracellular matrix for in situ adipose tissue regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *9*, 8581–8588. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b16783>
- [37] Zhang, S., Lu, Q., Cao, T., & Toh, W. S. (2016). Adipose tissue and extracellular matrix development by injectable decellularized adipose matrix loaded with basic fibroblast growth factor. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *137*, 1171–1180. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002019>
- [38] Young, D. A., Choi, Y. S., Engler, A. J., & Christman, K. L. (2013). Stimulation of adipogenesis of adult adipose-derived stem cells using substrates that mimic the stiffness of adipose tissue. *Biomaterials*, *34*, 8581–8588. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.103>
- [39] Turner, A. E., Yu, C., Bianco, J., Watkins, J. F., & Flynn, L. E. (2012). The performance of decellularized adipose tissue microcarriers as an inductive substrate for human adipose-derived stem cells. *Biomaterials*, *33*, 4490–4499. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.03.026>
- [40] Cheung, H. K., Han, T. T. Y., Marecak, D. M., Watkins, J. F., Amsden, B. G., & Flynn, L. E. (2014). Composite hydrogel scaffolds incorporating decellularized adipose tissue for soft tissue engineering with adiposederived stem cells. *Biomaterials*, *35*, 1914–1923. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.067>
- [41] Choi, J. S., Kim, B. S., Kim, J. Y., Kim, J. D., Choi, Y. C., Yang, H. J., ... Cho, Y. W. (2011). Decellularized extracellular matrix derived from human adipose tissue as a potential scaffold for allograft tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part a*, *97*, 292–299. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33056>
- [42] Leung, K., Yeoh, G. P. S., & Chan, K. (2007). Breast pathology in complications associated with polyacrylamide hydrogel (PAAG) mammoplasty. *PubMed*, *13*(2), 137–140. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17406041>
- [43] Luo, S., Chen, G., Sun, Z., & Cheng, N. (2011b). Our strategy in complication management of augmentation mammoplasty with polyacrylamide hydrogel injection in 235

patients. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 64(6), 731–737.

<https://doi.org/10.1016/j.bjps.2010.10.004>